

(19) 日本国特許庁 (J P)

## (12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2000-131237

(P2000-131237A)

(43) 公開日 平成12年5月12日 (2000.5.12)

(51) Int.Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テマコード* (参考)
G 0 1 N 21/64		G 0 1 N 21/64	F 2 G 0 4 3
C 1 2 M 1/00		C 1 2 M 1/00	A 2 G 0 4 5
C 1 2 N 15/09		C 1 2 Q 1/68	A 4 B 0 2 4
C 1 2 Q 1/68		G 0 1 N 33/50	Z N A P 4 B 0 2 9
G 0 1 N 33/50	Z N A	33/543	5 9 5 4 B 0 6 3

審査請求 未請求 請求項の数 6 OL (全 7 頁) 最終頁に続く

(21) 出願番号 特願平10-300817

(22) 出願日 平成10年10月22日 (1998. 10. 22)

(71) 出願人 000005201

富士写真フイルム株式会社

神奈川県南足柄市中沼210番地

(72) 発明者 小倉 信彦

神奈川県足柄上郡開成町宮台798番地 富

士写真フイルム株式会社内

(74) 代理人 100073184

弁理士 柳田 征史 (外1名)

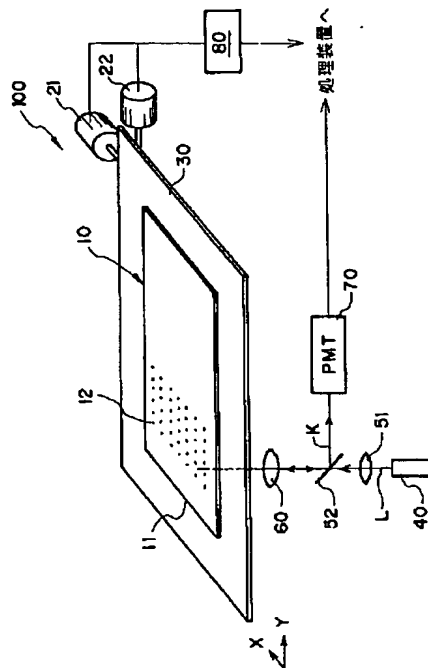
最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 マイクロアレイチップの読取方法および読取装置

## (57) 【要約】

【課題】 マイクロアレイチップの読取装置において、コストを低減するとともに読取処理速度を高速化する。

【解決手段】 マイクロアレイチップ10を照射する励起光Lを、集光レンズ60により、マイクロアレイチップ10上においてそのビーム径が各結合物（被検出物）12よりも大きい径となるようにしつつ、結合物12が配置されるマイクロアレイチップ10上の所定位置のみを励起光Lが走査するように、ステップモータ21、22がステージ30を移動させる。



## 【特許請求の範囲】

【請求項 1】 担体上の予め設定された多数の所定の位置のうち少なくとも一部に励起光の照射を受けて発光する被検出物が各別に配置されてなるマイクロアレイチップを励起光が走査するように、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動し、前記励起光が走査された前記被検出物からの前記発光を読み取るマイクロアレイチップの読取方法において、

前記励起光を、前記マイクロアレイチップ上において、そのビーム径が前記各被検出物よりも大きい径であって 2 以上の前記被検出物を同時に照射することがない径となるように拡大または縮小し、

前記励起光が前記各所定の位置のみを照射するように、1 つの所定位置から他の所定位置まで間欠的に、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動することを特徴とするマイクロアレイチップの読取方法。

【請求項 2】 前記被検出物が、既知の特異的結合物質に、蛍光色素で標識された生物体由来物質がハイブリダイズされた結合物であることを特徴とする請求項 1 記載のマイクロアレイチップの読取方法。

【請求項 3】 前記特異的結合物質が cDNA であり、前記生物体由来物質が DNA であることを特徴とする請求項 2 記載のマイクロアレイチップの読取方法。

【請求項 4】 担体上の予め設定された多数の所定の位置のうち少なくとも一部に励起光の照射を受けて発光する被検出物が各別に配置されてなるマイクロアレイチップを励起光が走査するように、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動する走査手段と、前記励起光が走査された前記被検出物からの前記発光を読み取る光電読取手段とを備えたマイクロアレイチップの読取装置において、

前記励起光を、前記マイクロアレイチップ上において、そのビーム径が前記各被検出物よりも大きい径であって 2 以上の前記被検出物を同時に照射することがない径となるように拡大または縮小するビーム拡縮光学系をさらに備え、

前記走査手段が、前記励起光が前記各所定の位置のみを照射するように、1 つの所定位置から他の所定位置に間欠的に、前記励起光または前記マイクロアレイチップを相対的に走査するものであることを特徴とするマイクロアレイチップの読取装置。

【請求項 5】 前記被検出物が、既知の特異的結合物質に、蛍光色素で標識された生物体由来物質がハイブリダイズされた結合物であることを特徴とする請求項 4 記載のマイクロアレイチップの読取装置。

【請求項 6】 前記特異的結合物質が cDNA であり、前記生物体由来物質が DNA であることを特徴とする請求項 5 記載のマイクロアレイチップの読取装置。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明は DNA 解析、免疫学的解析等に用いられるマイクロアレイチップの読取方法および装置に関し、詳細には、マイクロアレイチップと励起光との相対的な走査の改良に関するものである。

## 【0002】

【従来の技術】 近年、遺伝子工学分野における技術が急速に発展し、10 万個にも及ぶと考えられているヒトゲノムの塩基配列を解読することを 1 つの目的とするヒトゲノムプロジェクトが展開されている。

【0003】 一方、抗原抗体反応を利用する酵素免疫測定法や蛍光抗体法等が診断や研究のために利用され、また各種遺伝子疾患に影響を与えている DNA を探索する研究も進んでおり、その 1 つの方法としてマイクロアレイ技術が注目されている。

【0004】 このマイクロアレイ技術は、図 3 に示すような、既に解読されている互いに異なる既知の多数の cDNA（特異的結合物質の一例）がメンブレンフィルタやスライドガラス上にドットとして所定の間隔でマトリックス状に高密度（数 100  $\mu\text{m}$  以下の間隔）に予め塗布されたマイクロアレイチップ（DNA チップと称するものもある）を用いる技術であり、例えば、蛍光色素 a で標識された健常者 A の細胞から取り出した DNA（生物体由来物質の一例）および蛍光色素 b で標識された、遺伝子疾患を有する検体 B の細胞から取り出した DNA を、ピペット等でこのマイクロアレイチップに滴下して各検体の DNA と、マイクロアレイチップ上の cDNA とをハイブリダイズさせ、後にこのマイクロアレイチップ上の各 cDNA に、各蛍光色素 a, b を各別に励起する励起光を相対的に走査して各 cDNA ごとの各蛍光を光検出器で検出し、マイクロアレイチップ上における蛍光の発光位置に対応付けられたこの検出結果により、各検体の DNA がいずれの cDNA とハイブリダイズされているかを求め、両検体間でハイブリダイズされた cDNA を比較することにより、上記疾病により発現した DNA または欠損した DNA を特定する技術である。

【0005】 ところで上記マイクロアレイチップからの上記発光の情報を読取りは、従来は図 5（1）に示すように、ビーム径 10～20  $\mu\text{m}$  の励起光 L をマイクロアレイチップ 10 の一方向（例えば図示の X 方向）に一定速度で主走査し、この 1 ライン分の主走査が完了すると、X 方向に直交する方向にマイクロアレイチップ 10 または励起光を僅かに移動（副走査）させて、再度主走査を行い、この主走査と副走査を繰り返すことにより、マイクロアレイチップ 10 の略全面を励起光 L で走査する。そして、マイクロアレイチップ 10 の、励起光 L が走査された各部分からの発光情報を光電的に読み取り、この読み取られた発光情報に基づいて、図示したマイクロアレイチップ 10 の全面に対応した、同図（2）に示すデジタル画像 10' を作成し、作成されたデジタル画像 10' に基づいてマイクロアレイチップ 10 上の cDNA のドット 12 に対応

する画像部分12' およびその近傍を含む一定形状（図示では矩形）の領域（図示において破線で囲まれた画像部分）を自動的にまたは手動により設定し、設定された領域内のデジタル画像信号を総和（若しくは積分）することにより各領域ごとの画像信号を求め、求められたこの画像信号に基づいて、マイクロアレイチップ10上の各cDNAのドット12の発光の有無を検出するものである。

【0006】

【発明が解決しようとする課題】ところで上述したデジタル画像10' に基づいた画像定量を行うためには、デジタル画像10' を作成する必要上、実際にドット12が存在する部分のみならずドット12が存在しない領域についても画像情報（発光情報）を読み取る必要があり、励起光Lを上述したように、マイクロアレイチップ10の略全面に走査している。またより高精度な画像情報を得るために、微小なビーム径の励起光Lを用いる必要がある。

【0007】しかし、上述したように一定速度で走査しつつ励起エネルギーを付与する場合、単位面積当たりの付与エネルギーを一定以上確保するために、励起光を高エネルギーのものとし、もしくは走査速度を遅くし、またはこれらの双方の措置を執る必要がある。また、高密度で精度良く走査するために、高精度の走査系を用いる必要がある。さらに、取得されたデジタル画像からドットに対応する部分の発光情報を解析するために、デジタル画像上で上記囲い込みを行い、積分処理する等の定量解析ソフトウェアを用いる必要がある。そしてこれらの構成は高価であるため、読取装置全体が高価なものとなっていた。

【0008】本発明は上記事情に鑑みなされたものであって、コストを低減するとともに読取処理速度を高速化した、マイクロアレイチップの読取方法および読取装置を提供することを目的とするものである。

【0009】

【課題を解決するための手段】本発明のマイクロアレイチップの読取方法は、予め設定された所定の位置の少なくとも一部に被検物が配置されているマイクロアレイチップ上の全面を励起光で走査するのではなく、上記予め設定された所定の位置のみを励起光で照射するように、被検物よりも大きいビーム径の励起光で、間欠的に走査するものである。

【0010】すなわち本発明のマイクロアレイチップの読取方法は、担体上の予め設定された多数の所定の位置のうち少なくとも一部に励起光の照射を受けて発光する被検物が各別に配置されてなるマイクロアレイチップを励起光が走査するように、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動し、前記励起光が走査された前記被検物からの前記発光を読み取るマイクロアレイチップの読取方法において、前記励起光を、前記マイクロアレイチップ上において、そのビーム径が前記各被検物よりも大きい径であって2以上の前記被検物

を同時に照射することがない径となるように拡大または縮小し、前記励起光が前記各所定の位置のみを照射するように、1つの所定位置から他の所定位置まで間欠的に、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動することを特徴とするものである。

【0011】ここで、担体とはメンブレンフィルタやスライドガラス等である。

【0012】予め設定された多数の所定の位置とは、所定の間隔で2次元状若しくは1次元状に高密度に配列される位置を意味し、例えば、上記担体（メンブレンフィルタやスライドガラス等）に既知の多数の特異的結合物質等がドットとして所定の間隔でマトリックス状に高密度（数100 $\mu$ m以下の間隔）に予め塗布された各位置などが該当する。

【0013】励起光の照射を受けて発光する被検物とは、例えば特異的結合物質に、蛍光色素で標識された生物体由来物質がハイブリダイズされた結合物等が該当するが、これに限るものではない。特異的結合物質とは、広く生体に係る物質であって、たとえばホルモン類、腫瘍マーカー、酵素、蛋白質、核酸、抗体、抗原となり得る種々の物質等、さらには各種cDNA、mRNAを含む、検体の生物体由来物質と免疫学的結合あるいはハイブリダイズ可能な物質を代表した意味であり、特にcDNAが適切である。また検体の生物体由来物質は、担体上に配置された既知の特異的結合物質と免疫学的結合あるいはハイブリダイズ可能な物質を代表した意味であり、たとえば抗体、抗原、基質、DNA、mRNA等であって、特にDNAが適切である。

【0014】多数の所定の位置のうち少なくとも一部に被検物が配置されてなるとは、設定されている多数の位置の全部に被検物が配置されている場合、多数の位置のうち一部の位置に被検物が配置されている場合をいう。なお、多数の位置のいずれにも被検物が配置されていないマイクロアレイチップに本発明の読取方法を適用して読取りを行うことを積極的に排除するものではなく、被検物が多数の位置のいずれにも配置されていないことを検出することに読取りの目的があるときは、本発明の読取方法を適用してもよい。

【0015】発光を読み取るとは、発光の有無を検出することのみならず、発光強度を検出することをも含む意である。

【0016】ビームの拡大または縮小は、公知の種々の光学系等を用いて行えばよい。

【0017】励起光が各所定の位置のみを照射するように、1つの所定位置から他の所定位置まで間欠的に移動するとは、各所定の位置においては停止して励起光を照射することをいみするが、1つの所定位置から他の所定位置まで移動する間は励起光を全く照射しないということに限るものではなく、所定の位置を照射している時間に対する照射時間が極めて短くなるように移動するもの

であればよい。すなわち、1つの所定位置から他の所定位置までの間の領域については、発光情報を読み取ることはなく、励起光を次の所定位置間に移動させるために通過するに過ぎない。

【0018】なお、特異的結合物質として既知の多種のcDNA、生物体由来物質として未知のDNAをそれぞれ適用したときは、この未知のDNAがハイブリダイズされたcDNAを特定することができるため、各種遺伝子疾患に影響を与えているDNAを特定する分野において、作業の効率化を図ることができる。

【0019】本発明のマイクロアレイチップの読取装置は、担体上の予め設定された多数の所定の位置のうち少なくとも一部に励起光の照射を受けて発光する被検出物が各別に配置されてなるマイクロアレイチップを励起光が走査するように、前記マイクロアレイチップと前記励起光とを相対的に移動する走査手段と、前記励起光が走査された前記被検出物からの前記発光を読み取る光電読取手段とを備えたマイクロアレイチップの読取装置において、前記励起光を、前記マイクロアレイチップ上において、そのビーム径が前記各被検出物よりも大きい径であって2以上の前記被検出物を同時に照射することがない径となるように拡大または縮小するビーム拡縮光学系をさらに備え、前記走査手段が、前記励起光が前記各所定の位置のみを照射するように、1つの所定位置から他の所定位置に間欠的に、前記励起光または前記マイクロアレイチップを相対的に走査するものであることを特徴とするものである。

【0020】光電読取手段としては、光電子増倍管他、公知の種々の構成を適用することができ、またビーム拡縮光学系も、公知の種々の構成を適用することができる。

【0021】励起光が各所定の位置を走査するように、走査手段が励起光またはマイクロアレイチップを相対的に移動させるためには、走査手段が予めそれらの所定の位置を記憶しているものであってもよいし、走査手段に逐次それらの所定の位置を指示する位置指示手段をさらに設けた構成としてこの位置指示手段から走査手段に各所定位置を逐次入力するようにしてもよいし、または上記所定の位置を逐次検出してこの検出された所定の位置を走査手段に入力する位置検出手段をさらに設けた構成としてこの位置検出手段により検出された各所定位置を走査手段に逐次入力するようにしてもよい。

【0022】

【発明の効果】本発明のマイクロアレイチップの読取方法および読取装置によれば、被検出物が配置される可能性がある、予め設定された所定の位置のみを励起光で照射するため、従来のように、被検出物が配置されていない領域まで高密度に走査するのに比して、励起光走査に要する時間を大幅に短縮することができる。

【0023】またマイクロアレイチップの全面的画像を

デジタル画像として取得する必要から、被検出物の大きさよりも小さいビーム径の励起光を高密度に走査する必要がある従来の方法や装置に較べて、本発明では、従来の走査密度よりも粗い間隔で設定されている所定の位置だけを走査すれば足りるため、走査手段に要求される最小移動ピッチが従来よりも緩和される。したがって、高密度保証の走査を行うことによるコストの上昇を抑制することができる。

【0024】さらにマイクロアレイチップ上におけるビーム径が各被検出物よりも大きい径の励起光により各被検出物を照射するため、1回の照射で当該被検出物の全体を照射することができ、したがって、この照射により当該被検出物全体から発せられた発光情報も1回の検出で検出することができ、したがって、従来のように一旦デジタル画像を作成したうえで被検出物に対応する領域を囲い込み、この囲い込まれた領域内の画素ごとの検出結果を総和することにより当該被検出物全体から発せられた発光情報を求めるという特別な処理が不要となる。

【0025】なお、励起光のビーム径を被検出物よりも大きい径とすることにより、被照射面における単位面積当たり・単位時間当たりの付与励起エネルギーは従来よりも低下するが、上述したようにマイクロアレイチップ全体として励起光の走査時間を大幅に短縮することができるため、各所定の位置に励起光を滞留させる時間を延長することで付与エネルギーの低下を防止することができる。このように滞留させる時間を延長した場合であっても、マイクロアレイチップ全体として励起光の走査時間を短縮することができる。

【0026】また、励起光のビーム径を被検出物よりも大きい径としつつも、2以上の被検出物を同時に照射することがない径としたことにより、2以上の被検出物を同時に照射して誤った読取結果となるのを防止することができる。

【0027】このように本発明のマイクロアレイチップの読取方法および読取装置によれば、高価な、高密度保証の走査系、高エネルギーの励起光および定量解析ソフトウェアを用いる必要がないためコストを低減することができ、また、粗い走査でよいため励起光の走査を高速化することができる。

【0028】

【発明の実施の形態】以下、本発明のマイクロアレイチップの読取方法を実施する読取装置の具体的な実施の形態について、図を参照して説明する。

【0029】図1は、本発明のマイクロアレイチップの読取装置の一実施形態を示す図、図2は図1に示した読取装置による読取りの対象となるマイクロアレイチップ10の一例を示す図である。

【0030】図3は、スライドガラス11の、マトリックス状に高密度に予め設定された所定の位置に、それぞれ互いに異なるcDNAが塗布されたマイクロアレイチッ

プ10"を示すものであり、予め塗布されているcDNAはいずれも既知で、塗布されている位置とそのcDNAとは対応関係が予め明らかになっているものである。そして遺伝子疾患を有する被検体のDNAに蛍光色素で標識したものを、この図3に示したマイクロアレイチップ10"にハイブリダイズし、このハイブリダイズされた結合物(被検出物)12だけをスライドガラス11上に残留させたものが、図2に示すマイクロアレイチップ10である。なお図は、説明のために、図3に示したマイクロアレイチップ10"と図2に示したマイクロアレイチップ10とを比較することにより、残留している結合物12の位置を肉眼で識別することができるように記載されているが、実際のマイクロアレイチップにおいては、cDNAが高密度に塗布されているため、これらの位置を肉眼で識別することは困難である。

【0031】図示のマイクロアレイチップの読取装置100は、図2に示したマイクロアレイチップ10が載置される2次元状に可動のステージ30と、励起光Lを出射する励起光源40と、光源40から出射された励起光Lを平行光束にするコリメータレンズ51と、励起光Lを透過した後述する蛍光Kを反射せしめる偏光ビームスプリッタ52と、ビームスプリッタ52を透過した励起光Lを、ステージ30上に載置されたマイクロアレイチップ10上に集光せしめる集光レンズ60と、マイクロアレイチップ10から発光された蛍光Kを光電検出するフォトマルチプライヤ(PMT)70と、マイクロアレイチップ10を励起光Lが走査するように、マイクロアレイチップ10を励起光Lに対してY軸方向の移動させる第1のステップモータ21およびX軸方向に移動させる第2のステップモータ22と、励起光Lがマイクロアレイチップ10上の所定の位置のみを照射するように、これら第1および第2のステップモータ21, 22に対して停止すべき各所定の位置を入力する位置指示手段80とを備えた構成である。

【0032】ここで、位置指示手段80により第1および第2のステップモータ21, 22に対して入力される所定の位置とは、図3に示したマイクロアレイチップ10"におけるcDNAが塗布されていた全ての位置を意味する。したがって、当該位置には必ずしも結合物12が存在するとは限らない。

【0033】集光レンズ60は、詳しくは、励起光Lがマイクロアレイチップ10上において、結合物12の大きさよりも大きいスポット径で集光されるように設定されたものである。

【0034】次に本実施形態の読取装置100の実施形態の作用について説明する。

【0035】まずステージ30上の決められた位置に、図2に示したマイクロアレイチップ10が載置される。このとき、マイクロアレイチップ10上の、cDNAが塗布されていた各所定の位置は、ステージ30上のX軸方向の位置およびY軸方向の位置に対応付けられる。この対応付

けは位置指示手段80から各ステップモータ21, 22に入力される。

【0036】一方、励起光源40からは励起光Lが出射され、この励起光Lはコリメータレンズ51に入射して平行光束とされる。平行光束とされた励起光Lは偏光ビームスプリッタ52を透過し、集光レンズ60により、ステージ30上に載置されたマイクロアレイチップ10上に集光される。

【0037】各ステップモータ21, 22は位置指示手段80から入力された指示位置に基づいて、励起光Lがマイクロアレイチップ10上の最初の所定の位置を照射するように、ステージ30をXY平面内で駆動し、その位置で停止する。励起光Lはマイクロアレイチップ10上の最初の所定の位置を、結合物12よりも広いスポット径で照射するが、この励起光Lで照射された最初の所定位置に結合物12が存在したときは、図4に示すように、結合物12はその全体が励起光Lにより照射され、結合物12の蛍光色素が励起され、蛍光Kを発光する。励起光Lで照射された最初の所定位置に結合物12が存在しないときは、マイクロアレイチップ10からは蛍光Kが発光することはない。

【0038】結合物12が存在し蛍光Kが発光されたときは、その蛍光Kは集光レンズ60、偏光ビームスプリッタ52を順次通過して、フォトマルチプライヤ70に入射し、その光量に応じた電気信号に変換されて、外部の処理装置に出力される。外部の出力装置には、位置指示手段80から、励起光Lが照射した所定の位置の情報が入力されており、所定の位置と蛍光Kの検出の有無およびその光量に対応づけられる。

【0039】最初の所定位置への励起光Lの照射から一定時間経過すると、位置指示手段80から次の所定位置がステップモータ21, 22に入力され、例えばステップモータ22のみが駆動されて、ステージ30をX軸方向に、最初の所定位置の隣の所定位置を励起光Lが照射するように移動させたのち停止する(図4参照)。

【0040】そして励起光Lはこの隣の所定位置を照射し、最初の所定位置のときと同様に、結合物12が存在したときは蛍光Kが発せられてフォトマルチプライヤ70に検出され、存在しないときは検出されない。

【0041】以上の操作を、マイクロアレイチップ10上の全ての所定位置を励起光Lが照射するまで繰り返すことにより、処理装置には、これらの全ての所定位置と蛍光Kの発光の有無および発光量が対応付けられ、この対応関係に基づいて、遺伝子疾患の被検体のDNAの機能分析がなされる。

【0042】そして以上説明したように、本実施形態のマイクロアレイチップの読取装置100によれば、間欠的にステージ30を移動して、結合物12が存在しうる、予め設定された所定の位置(cDNAが塗布された位置)のみを励起光Lで照射するため、励起光Lの走査に要する時間を、従来に較べて大幅に短縮することができる。ま

たステージ30の移動も粗い間隔で間欠的に行えばよいため、安価なステップモータ21、22により実現することができ、コストの上昇を抑制することができる。

【0043】さらにマイクロアレイチップ10上におけるビーム径が各結合物12よりも大きい径の励起光Lにより各結合物12を照射するため、1回の照射で当該結合物12の全体を照射することができ、したがって、この照射により当該結合物12全体から発せられた蛍光Kも1回の検出で収録することができ、一旦デジタル画像を作成したうえで結合物12に対応する領域を囲い込み、この囲い込まれた領域内の画素ごとの検出結果を総和することにより結合物12全体から発せられた蛍光Kの強度または光量を求めるという特別な処理が不要となる。

【0044】なお本実施形態の読取装置においては、マイクロアレイチップ上の所定の位置を規定するものが、cDNAの塗布位置であったが、本発明のマイクロアレイチップの読取方法および読取装置はこの態様に限定されるものではない。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明のマイクロアレイチップの読取装置の一実施形態を示す図

【図2】図1に示した読取装置に使用されるマイクロア

レイチップを示す図

【図3】図2に示したマイクロアレイチップの元の状態を示す図

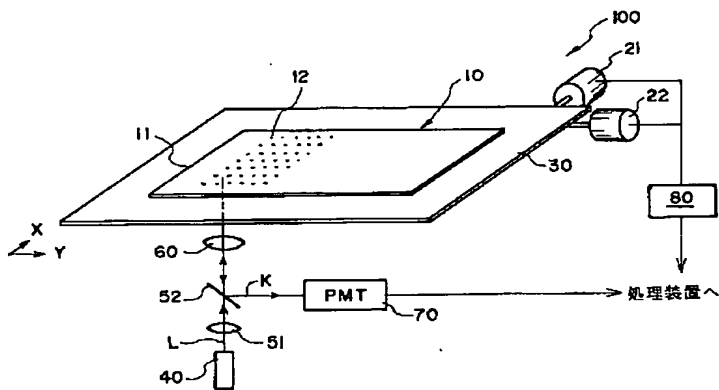
【図4】励起光の走査状態を説明する図

【図5】従来の、励起光の走査状態および読取りを説明する図

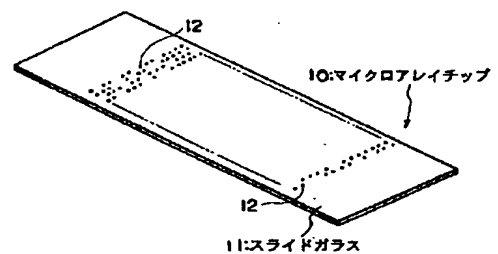
【符号の説明】

- |        |            |
|--------|------------|
| 10     | マイクロアレイチップ |
| 11     | スライドガラス    |
| 12     | 結合物（被検出物）  |
| 21, 22 | ステップモータ    |
| 30     | ステージ       |
| 40     | 励起光源       |
| 51     | コリメータレンズ   |
| 52     | 偏光ビームスプリッタ |
| 60     | 集光レンズ      |
| 70     | フォトマルチプライヤ |
| 80     | 位置指示手段     |
| 100    | 読取装置       |
| L      | 励起光        |
| K      | 蛍光         |

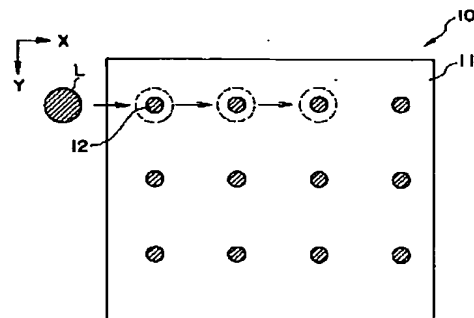
【図1】



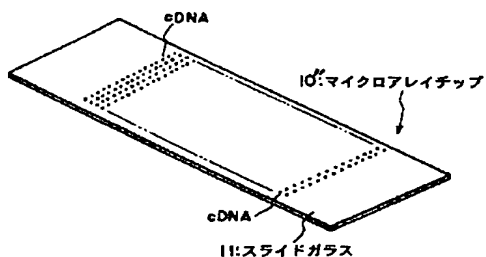
【図2】



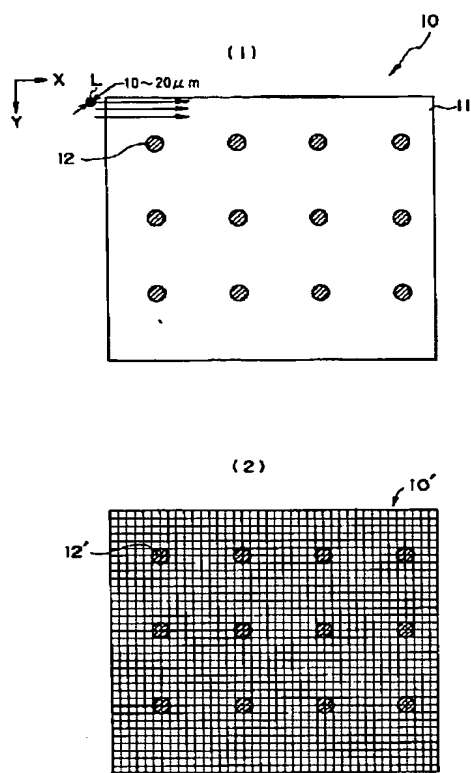
【図4】



【図3】



【図 5】



フロントページの続き

(51) Int. Cl. <sup>7</sup>	識別記号	F I	テ-マコ-ド (参考)
G 0 1 N 33/543	5 9 5	C 1 2 N 15/00	A
F タ-ム (参考)	2G043 AA03 AA04 BA16 CA03 CA07		
	DA02 DA05 EA01 FA01 GA02	35	
	GA07 GB02 GB19 HA01 HA09		
	LA02 NA06		
	2G045 AA35 DA12 DA13 DA14 DA36		
	FA29 FB02 FB03 FB07 FB12		
	GC15 HA09 HA14 JA07	40	
	4B024 AA19 AA20 CA01 HA11 HA19		
	4B029 AA07 AA23 CC03 CC08 FA11		
	FA15		
	4B063 QA01 QQ43 QR32 QR62 QS03		
	QS05 QS25 QS32	45	